



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO *Caesalpinia spinosa* “tara” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON ERITROMICINA

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR

RIVERA DELGADO, MARÍA LUSCELI

ASESORES

DRA. LLAQUE SÁNCHEZ MARÍA ROCÍO DEL PILAR

MG. BLGO POLO GAMBOA JAIME ABELARDO

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

Trujillo – Perú

2018

DEDICATORIA

A Amalia Delgado Uriarte, mi madre, por ser mi guía, la razón y motivo de cada día, porque me enseña a valorar el trabajo, con perseverancia y responsabilidad y me inculca el amor y respeto por los demás, a través de su ejemplo. Y a pesar de los obstáculos y las adversidades siempre hemos salido adelante, es y será mi mejor amiga, consejera, te quiero, aspiro y deseo ser su mayor orgullo.

A mi padre Magno Nicolás Rivera López, porque siempre fuiste mi inspiración y que a pesar que no tuve la oportunidad de llegar a operarte, sé que desde el cielo guías mis pasos, y estás orgulloso de mí, gracias papá, porque sembraste valores imborrables y a pesar de tu ausencia siempre estas presentes en mi mente y mi corazón.

A mi tío Ing. César Acuña Peralta, a mi primo Ing. Richar Acuña Nuñez, gracias.

Que gracias a su apoyo incondicional pudo ser posible mi objetivo anhelado.

MARÍA LUSCELI RIVERA DELGADO

AGRADECIMIENTO

A Dios, porque sin él nada hubiera sido posible, pusiste a personas maravillosas en mi camino, que apoyaron mi meta, cubriste mis necesidades cuando hubo escasez, no hubo mejor padre de reemplazo que pude tener, gracias por tanto amor, cuidado y protección en el transcurso de mi carrera y mi vida cotidiana.

Al Ing. César Acuña Peralta y al Ing. Richar Acuña Nuñez, por haberme apoyado en la realización de este sueño y meta académico logrando así permitirme culminar mi carrera universitaria, gracias por cada muestra de cariño y respeto, pero sobre todo por la confianza, gracias tío y primo, por darme la posibilidad de seguir adelante.

A mis maestros; gracias por su apoyo incondicional desde el inicio de mi carrera hasta la realización de mi sustentación de tesis; por su paciencia, apoyo moral y desinteresado de cada día y por encontrar siempre disposición para ayudarme y alentarme a continuar.

DECLARACION DE AUTENTICIDAD

Yo **María Lusceli Rivera Delgado** con DNI **46954063**, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, , a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada **“EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* “tara” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON ERITROMICINA”**, son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, de diciembre del 2018

PRESENTACIÓN

Estimado jurado

Cumpliendo el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo es que presento la Tesis cuyo título es **“EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* “tara” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON ERITROMICINA**”, la cual presento para su consideración y evaluación, esperando de esta manera su aprobación para poder obtener el título Profesional de Médico cirujano.

MARÍA LUSCELI RIVERA DELGADO

RESUMEN

El **objetivo** del estudio fue evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* "tara", sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con la eritromicina, estudio in vitro. **Método:** Se realizó un diseño experimental con repeticiones múltiples post prueba. Se realizó la observación del crecimiento de los microorganismos en placas Petri. El extracto etanólico fue obtenido a través del método por maceración y filtración y para la prueba de sensibilidad antimicrobiana el método de disco de difusión Kirby-Bauer. El extracto etanólico de la cascara-baya del *Caesalpinia spinosa* "tara" fue diluido a concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100%. Se estableció la eritromicina (500 mg), como control positivo y alcohol como control negativo. La incubación se hizo a una temperatura de 37°C y las lecturas en un periodo de 24 horas. **Resultados:** según la prueba Post Anova de Tukey nos indica que el mayor efecto lo proporciona la eritromicina (21.32 mm) seguido de la dilución de 100%(13.5mm) siendo el tercero más eficaz la dilución de 25% mientras que las de 50 y 75% son iguales en términos de eficacia (ANOVA 0.000). **Conclusión:** el tratamiento con eritromicina demostró ser más eficaz mientras que con el extracto etanólico de *Cesalpinia spinosa* la eficacia fue menor.

Palabras claves: *Caesalpinia spinosa*, *Staphylococcus aureus*, antimicrobiano, extracto etanólico.

ABSTRACT

The **objective** of the research was to evaluate the antimicrobial effect of ethanol extract of *Caesalpinia spinosa* "Tara" fruit (including the skin), on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared to erythromycin, in an *in vitro* study. **Method:** An experimental design was carried out with multiple post-test repetitions. The growth of microorganisms was observed in Petri-dishes. The ethanol extract was obtained by the method of filtration and maceration and for the antimicrobial susceptibility test, the Kirby-Bauer diffusion disk method was used. The ethanol extract of *Caesalpinia spinosa* "Tara" fruit (including the skin) was diluted at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. Erythromycin (500 mg), was set as a positive control and alcohol as the negative control. Incubation was carried out at 37 °C and readings taken over a period of 24 hours. **Results:** According to the post Anova Tukey-test it can be observed that the major effect is provided by erythromycin (21.32 mm) followed by the dilution at 100% (13.5mm) and as the third-most-effective the dilution at 25%, while 50 and 75% are equal in terms of efficacy (ANOVA 0.000). **Conclusion:** Treatment with erythromycin proved to be more effective and the ethanolic extract of *Cesalpinia spinosa* had lower effectiveness.

Keywords: *Caesalpinia spinosa*, *Staphylococcus aureus*, antimicrobial, ethanol extract.

INDICE

PAGINAS PRELIMINARES

PÁGINA DEL JURADO.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
DECLARACION DE AUTENTICIDAD	iv
PRESENTACION	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT	¡Error! Marcador no definido.
INDICE	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA	1
1.2. TRABAJOS PREVIOS.....	2
1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA.....	3
1.4. FORMULACION DE PROBLEMA:	5
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	5
1.6. HIPÓTESIS.....	6
1.7. OBJETIVOS	7
1.7.1. OBJETIVO GENERAL.....	7
1.7.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	7
II. MÉTODO.....	8
2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:	8
2.2. VARIABLES Y OPERALIZACIÓN.....	8
2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	10
2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.....	11
2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS:	12
2.6. ASPECTOS ÉTICOS:	12
III. RESULTADOS:	13
IV. DISCUSIÓN	17
V. CONCLUSIÓN.....	19
VI. RECOMENDACIONES	20
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:	21
VIII. ANEXOS.....	25

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

En el Perú las causas más frecuentes de enfermedades son por gérmenes, entre ellas *Staphylococcus aureus*. Este germen se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial, con una frecuencia del 50%; caracterizado como el causal de múltiples infecciones, entre ellas la faringoamigdalitis en un 80% sobre todo en países en vías de desarrollo; causando recurrencia en consultorio.¹

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), estudió que el 80% de la población depende de la medicina tradicional y empezó a reconocer la necesidad de integrar a la salud pública y a la medicina en la población rural, permitiendo la disminución del gasto económico y la difícil adquisición de medicamentos farmacológicos.²

Por otro lado, las plantas medicinales son una importante fuente de posibilidades terapéuticas. El hombre las ha utilizado desde sus primeros días, por ende, hoy en día, se mantiene una permanente búsqueda de alternativas en la biodiversidad de plantas medicinales; una de ellas es la *Caesalpinia spinosa*, que es utilizada tradicionalmente en las comunidades de Ayacucho, Cajamarca, La Libertad por su efecto antibacteriano en el tratamiento faringo-amigdalitis. Estudios previos con esta planta han demostrado su actividad antibacteriana del efecto del extracto de las vainas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas Gram positivas "*Staphylococcus aureus*".³

Al ser una de las causas más frecuentes de infecciones a la que se le asocia a *Staphylococcus aureus* y que ataca a la población entre los 5-15 años preferentemente. Estudios indican que el 70% de 5-15 años ha disminuido el 5% y un 23% en adultos jóvenes. Siendo necesario contar con medicamentos alternativos, naturales al alcance de la población. Por ende, resulta de gran interés y de prioridad evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la cascara-baya *Caesalpinia spinosa* "*tara*" sobre *Staphylococcus aureus* que podrían servir hoy en día como medicina complementaria o coadyuvante.⁴

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Kloucek, P et al.⁸ (África, 2009) evaluaron el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* en distintas diluciones sobre determinado grupo de cepas gran positivas y gran negativas de microorganismos. Los resultados mostraron que *Enterococcus faecalis* presenta una concentración mínima inhibitoria (CIM) de 0,5 µg/ml, mientras que para *Bacillus cereus* fue de 8 µg/ml y para *Bacillus subtilis* de 16 µg/ml.

Ferreira, J et al.¹⁰ (Brasil, 2005) analizaron el efecto antifúngico del extracto hexánico de *Caesalpinia spinosa* contra *Fusarium solani* y *Phoma tarda*. En distintas diluciones sobre determinados agentes. Los resultados mostraron que los extractos inhibieron el crecimiento se encontraban entre 3,95 % a 32,20 % contra el *Phoma tarda* y el 7,29 % a 33,83 % para el *Fusarium solani*.

Guevara, J et al.⁵ (Perú, 2014) comprobaron el efecto antimicrobiano en distintas diluciones utilizando tres biovariedades de *Caesalpinia spinosa* (tara), procedentes de las zonas de Huarochirí, Huamanga y Tarma frente *Staphylococcus aureus*, sensibles o resistentes a la oxacilina. Los resultados mostraron que la tara de la zona de Huarochirí presentó diámetros menores, encontrando un halo de inhibición de 14,07 mm ± 5,86 mm, comparada con la Tara Tarma 25,24 mm ± 7,23 mm y la Tara Huamanga 26,14 mm ± 7,33 mm por lo cual concluyen que *Caesalpinia spinosa* “tara” de la zona de Huarochirí tiene mayor sensibilidad a la oxacilina frente *Staphylococcus aureus*.

Huarino, M.⁶ (Perú, 2011) determinó el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* sobre la flora bacteriana mixta salival en distintas concentraciones. Se concluyó que a medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* de 6.25 mg/ml a 75 mg/ml se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición mayores a 9 mm con diámetros promedios que varían entre 12.32 a 17.32 mm.

Añanca E. ⁷ (Perú, 2009) determinó el efecto antibacteriano del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* en distintas concentraciones sobre determinado grupo de microorganismos. Los resultados mostraron que *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* son sensibles frente al extracto acuoso de la *Caesalpinia spinosa* “tara” presentando una concentración media inhibitoria de 13.7 µg/ml y la concentración mínima letal (CMB) de 16.25 µg /ml, se concluyó que la “tara” tiene actividad antibacteriana “in vitro” contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*.

Escobar L. ⁹ (Perú, 2008) determinó el efecto antibacteriano del extracto alcohólico en diferentes concentraciones de *Caesalpinia spinosa* sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae* usando inóculos estandarizados con el Nefelómetro de Mc Farland N° 0.5 encontrándose que el promedio de los diámetros de los halos de inhibición oscila entre 34,11 mm a 43,55 mm. A medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* se obtiene mayor diámetro de halo de inhibición.

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

Hoy en día las infecciones por *Staphylococcus aureus* se ha vuelto muy frecuente, este agente Gram positivo, mide entre 0.5 y 1.5 micras diámetro, se ubica principalmente en fosas nasales, se caracteriza por ser un microorganismo que se encuentra ampliamente esparcido en el ambiente, debido a que posee particularmente características de virulencia y resistencia contra antibióticos, lo cual representa un grave problema en la salud, esto es, gracias a que su distribución se extiende a todo el mundo, el impacto en la morbilidad es considerable a nivel comunitario; el mecanismo de invasión se da a través de contacto de persona a persona o cualquier sustancia u objeto contaminado. Los componentes del microbio son peptidoglicanos y ácidos teicoicos, además de la proteína A; provocando este microorganismo la combinación de los factores de virulencia y ocasionando la disminución de las defensas del huésped.¹¹

Los antibióticos son una gran fuente de recurso para la medicina humana, uno de ellos es la eritromicina, un antibiótico que pertenece a la familia de los macrólidos y es considerado como el tercer tratamiento de elección frente a *Staphylococcus aureus*, actúa interfiriendo en la síntesis proteica bacteriana a nivel de subunidad 50S ribosomal, inhibiendo así la reproducción de la bacteria a fin de eliminarla y pueda curar rápidamente la patología. ¹²

La *Caesalpinia spinosa* es una alternativa terapéutica en la práctica de la medicina, esta planta comúnmente conocida como tara, originaria del Perú, pertenece a la familia de los fabaceae, es un árbol pequeño, de dos a tres metros de altura, de tronco corto, cilíndrico y a veces tortuoso, y está provisto de una corteza gris espinosa, con ramillas densamente pobladas, que crece de manera silvestre en los climas secos, cálidos y subcálidos de la costa. ¹³

En Perú, numerosos estudios han reportado la presencia de taninos, flavonoides, gomas, alcaloides y proteínas en la Tara, que se pueden hallar tanto en la vaina como en la semilla. ¹⁴

Esta planta es muy utilizada por sus principios activos: taninos, ácido tánico y ácido gálico, en la actualidad la industria utiliza esta planta por sus altas concentraciones de tanino y ácido gálico, es conocida además por su alto poder astringente por coagular las albúminas de las mucosas y de los tejidos, creando una capa aislante y protectora que reduce la irritación y el dolor; por tal motivo son usados para diversas patologías entre ellas para la faringo-amigdalitis. ¹⁵

En la vertiente occidental de los andes y valles interandinos la tara se utiliza como astringente, cicatrizante por medio de gárgaras, lo que permite eliminar la presencia de microorganismos, sin ocasionar efectos adversos en el paciente. ¹⁵

Los taninos tienen la propiedad de formar complejos con macromoléculas, particularmente con las proteínas; así forman enlaces puentes de hidrógeno, y una unión covalente, colocándose entre las fibras de colágeno de la piel, empleándolos en medicina en tratamientos de excoiaciones y quemaduras de la piel donde las proteínas forman una capa protectora antiséptica bajo la cual se regeneran los tejidos. ¹⁶

1.4. FORMULACION DE PROBLEMA:

¿El extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* “tara”, tuvo efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATC 25923 comparado con Eritromicina a dosis de 15 µg, estudio vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las plantas medicinales se han usado desde hace varios siglos debido a su poder curativo, los cuales no han tenido un estudio científico que demuestre dichas propiedades, tal es el caso de la *Caesalpinia spinosa* “tara”.

Debido a que la *Caesalpinia spinosa* “tara” tiene pocos trabajos de investigación que indican su propiedad antibacteriana para ser usada frente las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* constituyendo uno de los problemas de salud importantes de nuestro medio.

Actualmente se encuentra problemas de resistencia a los medicamentos antimicrobianos a diversos microorganismos entre ellos es el *Staphylococcus aureus*. Las infecciones por *Staphylococcus aureus* se pueden tratarse con los antibióticos derivados betalactámicos, pero están en aumento su resistencia a estos medicamentos.

Ante esta problemática y dado el hecho de que la solución no es proveer medicamentos, creemos conveniente haber realizado un estudio experimental con el fin de buscar nuevas formas de tratamiento que se operativicen en nuestra comunidad, motivo por el cual esta investigación ha sido orientada a insertar la “tara” como un ícono para la medicina alternativa y apoyo de tratamiento médico, basándonos en sus principios activos (taninos) y teniendo como referencia el uso que le da la población mediante tratamiento de gárgaras.

Con esta investigación hemos dado a demostrar que las vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) tienen un efecto inhibitor in vitro del crecimiento bacteriano y así

lograr introducir su uso en el tratamiento de afecciones tanto leves, moderadas y crónicas, no solo para producir la iatrogenia medicamentosa, sino para mejorar las posibilidades terapéuticas, ya que los extractos vegetales gozan de unos márgenes terapéuticos más amplios que los fármacos sintéticos, menor proporción de efectos secundarios y sobre todo porque su uso es muy limitado, de tal manera que las bacterias aún no han desarrollado mecanismos de resistencia en su contra.

1.6. HIPÓTESIS

H₁: El extracto etanólico de la *cascara- baya* del *Caesalpinia spinosa* “*tara*”, tuvo efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Eritromicina a dosis de 15 µg, estudio vitro.

H₀: El extracto etanólico de la *cascara- baya* del *Caesalpinia spinosa* “*tara*”, no tuvo efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Eritromicina a dosis de 15 µg, estudio vitro.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar si el extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* “tara”, tiene efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Eritromicina a dosis de 15 µg, estudio in vitro.

1.7.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Determinar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* al 100%.
- Determinar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* al 75%.
- Determinar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* al 50%.
- Determinar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* al 25%.
- Establecer el efecto antimicrobiano de la eritromicina a dosis de 15 µg.

II. MÉTODO

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACION: Experimental de serie de tiempo con repeticiones múltiples. Post prueba.

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	-	O6

Donde:

G1: Dilución de la cascara de *Caesalpinia spinosa* “tara” al 100%

G2: Dilución de la cascara de *Caesalpinia spinosa* “tara” al 75%

G3: Dilución de la cascara de *Caesalpinia spinosa* “tara” al 50%

G4: Dilución de la cascara de *Caesalpinia spinosa* “tara” al 25%

G6: control negativo: alcohol

O: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición

2.2. VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

VARIABLE INDEPENDIENTE: Agente antibacteriano

- Agente antibacteriano no farmacológico:** El extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* “tara”
- Agente antibacteriano farmacológico:** Eritromicina a 15 µg.

VARIABLE DEPENDIENTE: Efecto antimicrobiano

- **Si efecto antimicrobiano:** halo de inhibición ≥ 15 mm
- **No efecto antimicrobiano:** halo de inhibición <15 mm

Operacionalización:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V.I: Esquema de tratamiento para cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	<p>Para el tratamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> se utilizó:</p> <p>Tratamiento no farmacológico con cascara- baya <i>Caesalpinia Spinosa</i> "tara"¹⁸</p> <p>Tratamiento farmacológico con Eritromicina¹⁹</p>	<p>La población estuvo dividida en los siguientes grupos:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Cascara- baya del <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara", al 100% b) Cascara- baya al 75% c) Cascara- baya del <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara", al 50%. d) Cascara- baya del <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara", al 25 % e) Eritromicina 15 µg f) Alcohol 	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
V.D: Efecto antimicrobiano	<p>Es el aumento del halo de inhibición por medio del método Kirby Bauer.²⁰</p>	<p>Se considera efectivo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sensible ≥ 15 mm - Intermedio 13 – 14 mm - Resistente ≤ 12 mm 	<ul style="list-style-type: none"> - Efectivo (≥ 15mm) - No efectivo (<15mm) 	Cualitativa nominal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACION: Estuvo constituida por todas las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 cultivadas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo.

MUESTRA:

Tamaño de la muestra: Por tratarse de un trabajo experimental, se empleó la fórmula estadística para estudios experimentales considerando la diferencia del promedio de los halos de inhibición, para hallar el número de placas necesarias que validen la investigación. La muestra estuvo constituida por 12 repeticiones para cada estudio evaluado. **(ver anexo 01)**

Unidad de análisis: Estuvo constituida por cada cultivo en la placa Petri conteniendo las colonias de *Staphylococcus aureus*.

Unidad de muestral: Cada una de las placas de Petri conteniendo las colonias de *Staphylococcus aureus*, que cumplen los criterios de inclusión y exclusión.

Muestreo: Se consideró el muestreo no probabilístico.

CRITERIOS DE SELECCIÓN: Se consideró los siguientes criterios

Criterios de inclusión:

- Todas las placas petri viables

Criterios de exclusión:

- Se excluyeron las cepas contaminados de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Las que no crecen en los medios de cultivo.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: se consideró la observación directa de los cultivos en las placas petri.

PROCEDIMIENTO:

Se solicitó el permiso correspondiente al Laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo para el procesamiento de las muestras.

- a. Tipificación de la planta y la certificación por el área de Microbiología, HERBARIUM TRUXILLENSE(HUT) flora peruana de la Universidad Nacional de Trujillo Inicialmente la salvia fue recolectada en el mes de setiembre del 2017 en el distrito de Trujillo, departamento de La Libertad.(**ver anexo 02**)
- b. Extracción del extracto etanólico de la cascara de la baya, se obtuvo mediante la técnica de por maceración y filtración¹⁸.(**ver anexo 03**)
- c. Técnica para el cultivo se utilizó el agar Muller
- d. Determinación de la sensibilidad mediante la prueba de actividad bacteriana se obtuvo mediante método de Kirby – Bauer.¹⁹ (**ver anexo 04**)

INSTRUMENTO:

Se utilizó una Ficha de recolección de datos donde se anotó las medidas en milímetros de los halos de inhibiciones según las diluciones consideradas en el estudio (**ver anexo 05**).

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO:

La validación del instrumento fue realizada por tres profesionales del área en biología quienes garantizaron y determinaron la claridad, objetividad, actualidad, organización, suficiencia, consistencia, coherencia, metodología y oportunidad para su aplicación. (**ver anexo 06**).

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS:

La información obtenida fue tabulada en una ficha Microsoft Excel 2016, luego se analizó en el programa SPSS versión 25.0 y para los gráficos se utilizó el diagrama de cajas o bigotes.

Se aplicó la prueba estadística para homogenizar la muestra y luego análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros.

El análisis post ANOVA Tukey permitirán identificar la dilución con la que se obtendrá el mayor tamaño de halo de inhibición.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS:

El estudio se consideró las medidas de bioseguridad en el laboratorio dadas por el Ministerio de Salud ²¹(**ver anexo 07**). Así mismo se obtuvo también la aprobación del Comité de Investigación de la facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo de Trujillo. En el presente trabajo se respetó el principio de ética adoptado en el capítulo 6 del código de ética del Colegio Médico del Perú, especialmente el 6 artículo 48. ²²

III. RESULTADOS:

TABLA N° 01. Efecto antimicrobiano extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* “tara”, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Eritromicina a dosis de 15 µg, estudio in vitro

Diámetro del Halo de Inhibición

	N	Media	Desviación Estandar	Error Estandar	95% del Intervalo de Confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite Inferior	Límite Superior		
25%	19	12.05	2.223	0.510	10.98	13.12	9	17
50%	19	10.32	0.582	0.134	10.04	10.60	9	11
75%	19	10.32	1.204	0.276	9.74	10.90	8	13
100%	19	13.47	1.264	0.290	12.86	14.08	10	15
ERITROMICINA	19	21.32	1.529	0.351	20.58	22.05	19	24
TOTAL	95	13.49	4.349	0.446	12.61	14.38	8	24

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

TABLA N° 02: Efecto antimicrobiano extracto etanólico de la cascara-baya del *Caesalpinia spinosa* “tara”, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Eritromicina a dosis de 15 µg, estudio in vitro

ANALISIS DE VARIANZA(ANOVA)

	Suma de Cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	Sig.
Entre Grupos	1585.747	4	396.437	185.830	0.000
Dentro de Grupos	192.000	90	2.133		
TOTAL	1777.747	94			

Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 25

TABLA N° 03: Efecto antimicrobiano extracto etanólico de la cascara-baya del *Caesalpinia spinosa* “tara”, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Eritromicina a dosis de 15 µg, estudio in vitro

Prueba Post – hoc de Tukey

Ensayos

VAR00001

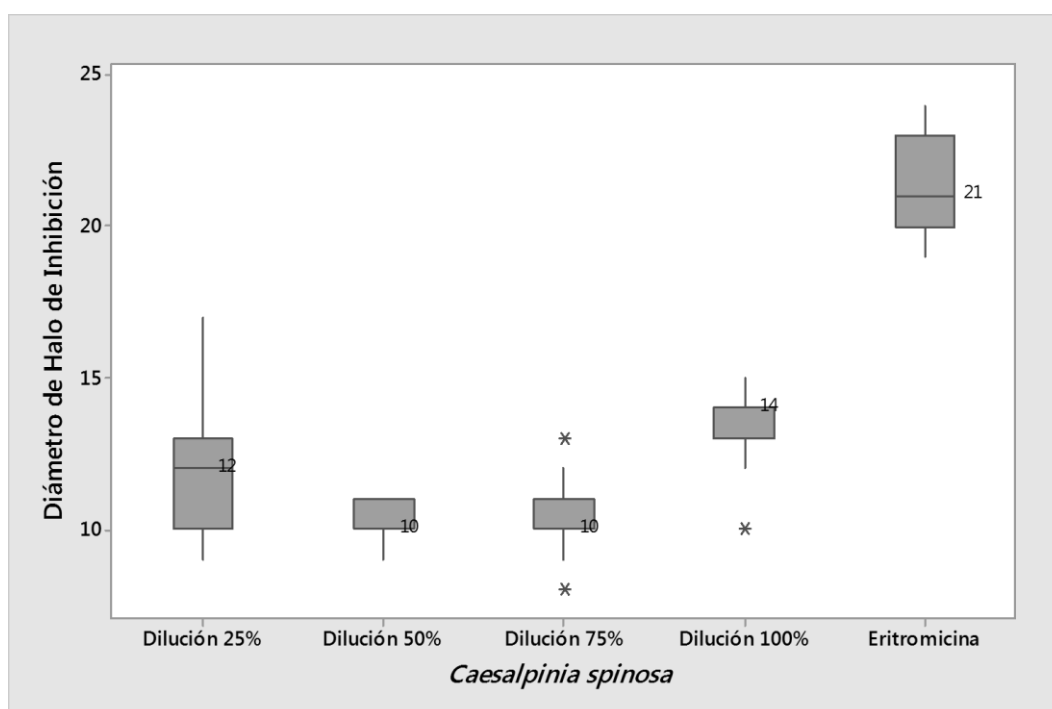
HSD Tukey^a

DILUCIONES	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
75%	19	10.32			
50%	19	10.32			
25%	19		12.05		
100%	19			13.47	
ERITROMICINA	19				21.32
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Se visualizan las medidas para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 19.000.

Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 25



Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 25

Gráfico 01. Efecto antimicrobiano extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* “tara”, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Eritromicina a dosis de 15 µg, estudio in vitro.

IV. DISCUSIÓN

Las diversas variedades del género *Caesalpinia spinosa* “tara” han mostrado una actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antifúngica, cicatrizante, entre otros. La presente investigación tuvo como objetivo mostrar la actividad antimicrobiana de la *Caesalpinia spinosa* sobre el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

En la **Tabla 01** se muestran los resultados del halo de inhibición, a diferentes diluciones de la *Caesalpinia spinosa*, sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, cabe resaltar que en las diluciones del 75%, 50% y 25%, no superaron los valores de inhibición necesarios para ser considerado sensibles según CLSI (sensible si halo de inhibición es ≥ 15 mm.). Por otra parte, se observa que los diámetros más pequeños se encontraron en la dilución al 50 y 75 % respectivamente. Por otro lado, la concentración más homogénea (desviación estándar) se presenta en la dilución de 50% (0.6 mm) seguido de la dilución de 75% (1.2 mm). La dilución de 100% presenta el halo de inhibición mayor con una media de 13.47 mm, (DS. 1.264 ± 0.290 . IC 95% (12.86 – 14.08)) en un intervalo de 10 a 15 mm de halo de inhibición; pero a pesar de ello no se considera eficaz según los patrones del CLSI. Se observa que el efecto antimicrobiano de la eritromicina es mayor para las cepas de *Staphylococcus aureus* (21.32 mm de halo de inhibición), siendo más eficaz que la *Caesalpinia spinosa*.

Según las pruebas estadísticas (Tabla 01 y 02) los resultados obtenidos en el estudio son altamente significativos ANOVA (0.000) y homogéneos y evidencia que la mayor eficacia la obtuvo eritromicina (Tukey). Esto se puede evidenciar en el Gráfico 01, que el extracto etanólico de la cascara- baya del *Caesalpinia spinosa* (tara), sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparada con eritromicina, no tienen mayor efecto antimicrobiano que el antibiótico. Se concluye que la eficacia antimicrobiana de extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* fue menor a de eritromicina en cepas de *Staphylococcus aureus*.

En el estudio Kloucek,P et al. (África, 2009), encuentra que para *Enterococcus faecalis* el extracto etanólico fue eficaz, encontrando una concentración mínima inhibitoria (CIM) de 0,5 µg/ml, mientras que para *Bacillus cereus* fue de 8 µg/ml

y para *Bacillus subtilis* de 16 µg/ml. El autor utilizó el método de la dilución; que no es comparable para el estudio.

Mayores halos de inhibición se encontraron en los estudios de Guevara, J et al. (Perú, 2014), utilizando la tara de Huarichiri encuentra halos de inhibición de 14,07 mm, la tara de Tarma 25,4 mm y la de Huamanga 26,14mm para *Staphylococcus aureus*, indicando que en su estudio si se evidencia un adecuado efecto antimicrobiano. Similar resultados al estudio de Escobar L. (Perú, 2008), prueba el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* en *Coriobacterium difteriae*, donde encuentra un halo de inhibición de 34mm-45mm indicando también que ha mayor concentración mayor halo de inhibición.

En el estudio de Huarino, M. (Perú, 2011), encuentra valores de 9mm, 12mm y 17 mm indicando a mayor concentración mayor efecto antibacteriano, realizando su investigación en la flora bacteriana de la saliva. En el estudio de Añanca E. (Perú, 2009), evalúa el efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* en la solución acuosa de la *Caesalpinia spinosa*. Concluye que la tara si tiene el efecto antibacteriano y utiliza el método de dilución presentando una concentración media inhibitoria de 13.7 µg/ml y la concentración mínima letal (CMB) de 16.25 µg /ml.

El bajo efecto antimicrobiano de la planta en nuestro estudio se podría explicar porque se utilizó una planta que fue cultivada de una zona de la costa de la ciudad de Trujillo- Miraflores. un sector urbano de la ciudad. Se sabe que la concentración de micronutrientes es diferente según los terrenos de cultivo y esto se observa en los diferentes estudios evaluados. La calidad del suelo en relación a nutrientes, minerales, temperatura, humedad, entre otros influyen en la composición de las plantas, sobre su crecimiento y desarrollo probablemente este podría ser un factor que influyó sobre los resultados del estudio.

A nivel de Perú y a nivel mundial; hay pocos estudios del uso de la Tara; por lo tanto, se ha tenido que transpolar la información obtenida de los trabajos previos con microorganismos gran negativos con el estudio actual.

V. CONCLUSIÓN

- La *Caesalpinia spinosa* “*tara*” mostró bajo efecto antimicrobiano sobre el *Staphylococcus aureus* comparado con la eritromicina.
- La Eritromicina mostró tener mejor efecto inhibitorio del crecimiento de las cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “*tara*”.
- La dilución de la cascara de *Caesalpinia spinosa* “*tara*” al 100% presentó el halo de inhibición de 13.47mm. no superando el valor del CLSI.
- La cascara de *Caesalpinia spinosa* “*tara*” en sus diluciones de 75% y 25% presentó halos de inhibición menores de 10.32mm y 12,05mm no superando el valor del CLSI.
- La eritromicina presentó halo de inhibición de 21.32mm mayor que la planta *Caesalpinia spinosa* “*Tara*” pero no llega a superar el valor del CLSI.

VI. RECOMENDACIONES

- Repetir el experimento comparada la planta procedentes de otras regiones del país para determinar si hay diferencias y la composición del terreno influye en la concentración de sus componentes
- Debido que la técnica usada para determinar la eficacia de *Caesalpinia spinosa* frente al *Staphylococcus aureus* fue según la medición del halo de inhibición, para futuras investigaciones, recomendamos que, además, se considere el uso de la técnica del recuento de unidades formadoras de colonias.
- Se podría evaluar su uso en forma experimental en animales en el tratamiento de heridas, como solución acuosa para la limpieza de las mismas.
- Para futuros estudios valorar la posibilidad de estudiar su efecto con otros microorganismos.
- La *Caesalpinia spinosa* “tara” a pesar que el efecto antimicrobiano no fue óptimo podría ser utilizado como coadyuvante en el tratamiento antimicrobiano a fin de potenciar la resolución de un proceso microbiano como infecciones de heridas con *Staphylococcus aureus*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse F, Mietzner T, Jawetz, Melnick, Adelberg. Microbiología Médica. Estados Unidos: Mc Grawhill; 2011
2. Organización Mundial de la Salud. (Citado: 10/Marzo/2017) Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
3. Hernando B. El libro blanco de los herbolarios y las plantas medicinales. Madrid: 2007 (Citado: 10/Abril/2017) Disponible en <http://www.fitoterapia.net/archivos/200701/260307libro-2.pdf?1>
4. Gonzales F, Sánchez J. Guía Asociación Española de Pediatría. 12ed. España: Elsevier; 2010.p 398. (Citado: 10/Abril/2011) Disponible en: <http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/faringoamigdalitis.pdf>
5. Guevara A, Guzmán B. Estudio fitoquímico al extracto metanólico de *Cheilanthes megriophylla* 'cuticuti' y su efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. (Tesis Bachillerato). Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo; 1991. (Citado: 14/Mayo/2014) Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v75n2/a15v75n2.pdf>
6. Huarino M, Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre flora salival mixta. Tesis Odontología Sanmarquina 2011. (Citado: 07/Mayo/2013) Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2809/1/Huarino_am.pdf
7. Añanca E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Facultad Ciencias Médicas Escuela Académico Profesional de

- Farmacia y Bioquímica: UNJBG. Tacna.2009. (Citado: 05/Junio/2012)
Disponible en:
<http://redi.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/624/TG0506.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. Kloucek P, Polezny Z, Svobodova B, Vlkova E, Kokoska I. Antibacterial Screening of Some Peruvian Medicinal Plants Used in Callería District. J of Ethnopharmacol. 2005. (Citado: 08/Junio/2011)
Disponible en:
<http://www.ethnopharmacologia.org/prelude2016/pdf/biblio-hs-20-sonibare.pdf>
9. Escobar BI. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae*. Rev Med Vallejana. 2008. (Citado: 08/Junio/2011) Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v75n2/a15v75n2.pdf>
10. Ferreira J, Cardoso M, Estevao De Souza P. Inhibitory Effect of *Caesalpinia spinosa* Leaflets Crude Extract of *Fusarium solani* and *Phoma tarda*. J Scient Biolgl. 2005. (Citado: 04/Junio/2011) Disponible en:
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=C3CC8D1EAB36298DF7BD523D85A0C993?doi=10.1.1.430.1631&rep=rep1&type=pdf>
11. Murray PR, Rosenthal KS y Pfaller MA. Microbiología Médica. 7ma. Ed. Edit. El sevier España SL. Barcelona, 2014.
12. Flores J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacología Humana. 5ª ed. España: Elsevier; 2008
13. Berdondes J. Gran Enciclopedia de las Plantas Medicinales Océano. Barcelona: España; 2004. 691 p.

14. Agroindustria, MINAG, Perú Produce el 80% de la Tara a Nivel Mundial. 10 de agosto 2009. En “Monografía de Tara-Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze.Lima”. Cabello L. Isabel Perú; octubre 2010. (Citado: 23/Octubre/2010). Disponible en:
[http://www.biocomercioperu.org/admin/recursos/contenidos/Monografia%20de %20tara%20-%20final.pdf](http://www.biocomercioperu.org/admin/recursos/contenidos/Monografia%20de%20tara%20-%20final.pdf).
15. López C., Garró V., Yrei V., Gallardo T., Acción antimicrobiana Caesalpineá tintoria (molina) kuntze o tara, de diferentes regiones del Perú, Ciencia e Investigación, 1998.
16. De la Cruz LP. Aprovechamiento Integral y Racional De La Tara. Rev. Inst. investig. Fac. minas metal cienc. geogr. 2004. (Citado 17/Enero/2010) Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/iigeo/v7n14/a09v7n14.pdf>
17. Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima – 2002. (Citado 30/Enero/2011) Disponible en:
[http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad %202.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf)
18. Pereyra C. Manual de laboratorio de química orgánica I. 3ra. ed. Mexico: UAM Azcopotzalco; 2007. p. 19–22
19. Ministerio de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión. Perú: Instituto Nacional de Salud; 2002. Serie de Normas Técnicas N° 30 (citado 05 jun 2017). Disponible en:
[http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad %202.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf)

20. Camaró M. Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. Cercenado E. Procedimientos en Microbiología Clínica. España: SEIMC; 2013.
21. Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (MINSA). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004 NORMA TECNUCA N° 015 – MINSA/DGSP – V.01. 2004. Perú. (Citado: 13/Junio/2017) Disponible en <http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>
22. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007. (Citado: 13/Junio/2017) Disponible en http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf

VIII. ANEXOS

ANEXO 01

FORMULA PARA EL CALCULO DE LA MUESTRA

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \cdot 2(\bar{y})^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

- $Z_{\alpha/2}$: Valor de la distribución normal estandarizada para el nivel de significancia 1-a.
- Z_{β} : Valor de la distribución normal estandarizada para el error β .
- X_1 : Promedio de la característica de estudio en grupo I.
- X_2 : Promedio de la característica de estudio en grupo II.

Donde:

$Z_{\alpha/2}$: 1.96

Z_{β} : 0.842

X_1 : 22.52 (Ref. # 17)

X_2 : 23.5 (Ref. # 05) **n= 12** repeticiones por cada dilución

ANEXO 02
VALIDADO EN EL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) FLORA PERUANA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO



ANEXO 03

Obtención del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “tara”:

- 1) Se deja macerar el material vegetal en OH etílico de 96° por cinco días a 40°C
- 2) Se filtra a través de una gasa estéril y después a través de papel filtro
- 3) Se evapora a 40° hasta que el sedimento tenga la textura de miel de abeja.
- 4) Se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto.

Figura 1: cascara-baya del *Caesalpinia spinosa* “tara” utilizada en el presente estudio.



Figura 2: el procedimiento de maceramiento del material vegetal en alcohol de 96° por cinco días a 40°.



Figura 3: Filtración del extracto etanólico en gasa estéril y después a través de papel filtro.



Figura 4: Evaporación a 40° llegando a una textura de miel de abeja.



Técnica para el cultivo se utilizó el agar Muller:

El desarrollo del medio de cultivo se realizará según las indicaciones del fabricante. Colocaremos esta solución en una autoclave y dejaremos enfriar hasta (40°C). Luego de esterilizarlo y solidificarlo cuantificaremos el pH, debiendo estar entre 7.2 a 7.4 a temperatura ambiente. Dosificaremos el medio en placas Petri de 150 mm en el cual utilizaremos 70ml del agar Mueller Hinton.



ANEXO 04

Determinación de la Sensibilidad Antimicrobiana Método de la difusión del disco (Kirby Bauer)

1. Colocar una suspensión de la bacteria sobre una placa
2. Inocular con agar de Muellen Hinton
3. Colocar sobre la placa discos de papel de filtro impregnados con el aceite esencial en distintas diluciones
4. Incubar por un periodo de 18 – 24h.
5. Mantener el cultivo en temperatura de 37°C
6. Medir el diámetro en milímetros de los halos de inhibición según las diferentes concentraciones.



Figura 5: sobre los discos se colocó papel filtro para luego ser impregnados del extracto etanólico en distintas soluciones.

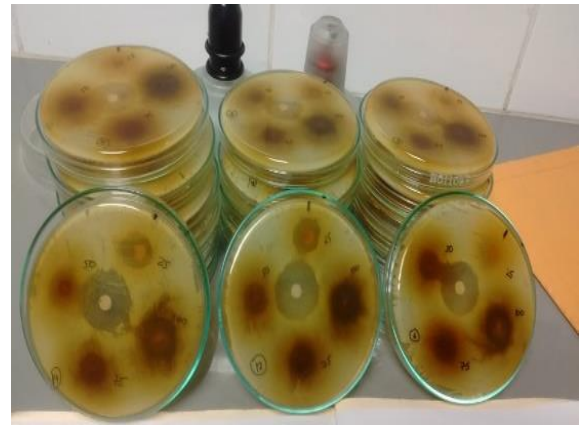
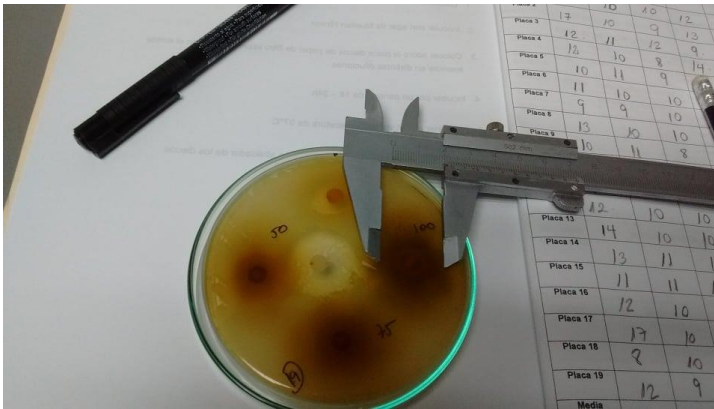


Figura 6: luego de incubar por un periodo de 24 horas y mantenerlo a temperatura de 37°C se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición.

ANEXO 05

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS HALOS DE INHIBICION(mm) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

PATOGENO <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	CONCENTRACION DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA CASCARA- BAYA DEL <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	100%	75%	50%	25%	ERITROMICINA 15ug	ALCOHOL
	Diámetro del halo de inhibición (mm)					
PLACA 1	12	10	10	12	19	0
PLACA 2	13	9	10	17	22	0
PLACA 3	10	12	11	12	20	0
PLACA 4	14	13	10	12	20	0
PLACA 5	13	10	11	10	21	0
PLACA 6	14	10	10	11	21	0
PLACA 7	14	11	11	9	20	0
PLACA 8	13	10	10	13	23	0
PLACA 9	13	9	11	10	19	0
PLACA 10	14	10	10	12	22	0
PLACA 11	15	11	9	10	21	0
PLACA 12	15	11	10	12	23	0
PLACA 13	14	10	10	14	23	0
PLACA 14	12	10	11	13	24	0
PLACA 15	14	12	11	11	23	0
PLACA 16	15	11	11	12	21	0
PLACA 17	13	9	10	17	20	0
PLACA 18	13	8	10	9	23	0
PLACA 19	15	10	10	13	20	0
Promedio del diámetro del halo de inhibición	14	10	10	12	21	0

ANEXO 06

FICHA DE VALIDACION DE INSTRUMENTO

PATOGENO <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	CONCENTRACION DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA CASCARA- BAYA DEL <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	100%	75%	50%	25%	ERITROMICINA 15ug	ALCOHOL
	Diámetro del halo de inhibición (mm)					
PLACA 1						
PLACA 2						
PLACA 3						
PLACA 4						
PLACA 5						
PLACA 6						
PLACA 7						
PLACA 8						
PLACA 9						
PLACA 10						
PLACA 11						
PLACA 12						
PLACA 13						
PLACA 14						
PLACA 15						
PLACA 16						
PLACA 17						
PLACA 18						
PLACA 19						
Promedio del diámetro del halo de inhibición						

MICROBIOLO 1

MICROBIOLO 2

MICROBIOLO 3

ANEXO 07

NORMAS DE BIOSEGURIDAD PARA EL TRABAJO EN LABORATORIO

Ropas y equipo de protección personal

1. En el laboratorio los trabajadores llevarán ropa protectora (mandil, guantes estériles, gorros, mascarilla), especiales para el trabajo de laboratorio.
2. Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan entrañar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados.

Una vez utilizados, los guantes se retirarán de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos
3. El personal deberá lavarse las manos después de manipular materiales y animales infecciosos, así como antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
4. Se usarán gafas de seguridad, viseras u otros dispositivos de protección cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impactos y fuentes de radiación ultravioleta artificial.
5. Estará prohibido usar las prendas protectoras fuera del laboratorio, por ejemplo, en cantinas, cafeterías, oficinas, bibliotecas, salas para el personal y baños.
6. No se usará calzado sin puntera
7. En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
8. Estará prohibido almacenar alimentos o bebidas para consumo humano en las zonas de trabajo del laboratorio.
9. La ropa protectora de laboratorio no se guardará en los mismos armarios o taquillas que la ropa de calle.

ANEXO 08
TABLA DE COMPARACION MULTIPLE

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: VAR00001

HSD Tukey

(I) DILUCIONES	(J) DILUCIONES	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
"100%"	"75%"	3.174 [*]	.465	.000	1.88	4.47
	"50%"	3.158 [*]	.471	.000	1.85	4.47
	"25%"	1.421 [*]	.471	.027	.11	2.73
	"Eritromicina"	-7.842 [*]	.471	.000	-9.15	-6.53
"75%"	"100%"	-3.174 [*]	.465	.000	-4.47	-1.88
	"50%"	-.016	.465	1.000	-1.31	1.28
	"25%"	-1.753 [*]	.465	.003	-3.05	-.46
	"Eritromicina"	-11.016 [*]	.465	.000	-12.31	-9.72
"50%"	"100%"	-3.158 [*]	.471	.000	-4.47	-1.85
	"75%"	.016	.465	1.000	-1.28	1.31
	"25%"	-1.737 [*]	.471	.003	-3.05	-.42
	"Eritromicina"	-11.000 [*]	.471	.000	-12.31	-9.69
"25%"	"100%"	-1.421 [*]	.471	.027	-2.73	-.11
	"75%"	1.753 [*]	.465	.003	.46	3.05
	"50%"	1.737 [*]	.471	.003	.42	3.05
	"Eritromicina"	-9.263 [*]	.471	.000	-10.58	-7.95
"Eritromicina"	"100%"	7.842 [*]	.471	.000	6.53	9.15
	"75%"	11.016 [*]	.465	.000	9.72	12.31
	"50%"	11.000 [*]	.471	.000	9.69	12.31
	"25%"	9.263 [*]	.471	.000	7.95	10.58

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.